CHEBAB.

INTRODUCTION A L'HISTOLOGIE.

1 - GENERALITES.

Dans l'histoire de la médecine et de la biologie, le concept de tissu a précédé celui de cellule. Le premier, dû à Bichat, dans les toutes premières années du XIX° siècle, a été élaboré à partir de dissection anatomiques réalisées à l'œil nu, sans recours au microscope. Dans un deuxième temps, en 1938, Schleiden et Schwann, utilisant le microscope photonique, ont édifié la théorie cellulaire postulant que l'organisme était fait de cellules et de produits élaborés par celles-ci. Vingt ans plus tard, Virchow a complété la théorie cellulaire en affirmant que toute cellule provient d'une cellule préexistante. Ainsi, alors que Bichat considérait que les tissus étaient les constituants élémentaires de l'organisme, avec la théorie cellulaire, la cellule est devenue l'unité élémentaire de la vie.et le tissu est devenu le premier niveau d'organisation supracellulaire.

On reconnaît, dans l'organisme, différents niveaux d'organisation structurale qui correspondent, en allant du plus complexe vers le plus élémentaire, aux appareils ou systèmes (appareil circulatoire)**,** aux organes (cœur), aux tissus (tissu musculaire strié myocardique)**,** aux cellules (fibre musculaire striée myocardique**)**, aux organites (mitochondries)**.**

En effet dans l'histoire de la médecine et de la biologie, le concept de tissu a précédé celui de cellule. Le premier, dû à Bichat, dans les toutes premières années du 19° siècle, a été élaboré à partir de dissection anatomiques réalisées à l'œil nu, sans recours au microscope. Dans un deuxième temps, en 1938, Schleiden et Schwann, utilisant le microscope photonique, ont édifié la théorie cellulaire postulant que l'organisme était fait de cellules et de produits élaborés par celles-ci. Vingt ans plus tard, Virchow a complété la théorie cellulaire en affirmant que toute cellule provient d'une cellule préexistante. Ainsi, alors que Bichat considérait que les tissus étaient les constituants élémentaires de l'organisme, avec la théorie cellulaire, la cellule est devenue l'unité élémentaire de la vie et le tissu est devenu le premier niveau d'organisation supracellulaire.

Il faut distinguer l'avènement du microscope qui a permis la naissance de l'anatomie microscopique avec Malpighi (1628-1694), de l'introduction du terme « histologie », de la notion même de tissu et de sa biologie que l'on doit à Bichat (1771-1802).

L'histologie est une discipline de base des sciences biologiques qui a pour objet l'étude des tissus. Ces derniers constituent un ensemble coopératif de cellules différenciées qui forment une triple association, territoriale, fonctionnelle et biologique**.**

L'histologie a pour but d'explorer la structure. Elle demeure une science vivante et utile pour tout étudiant en médecine, en chirurgie dentaire et en

biologie. En effet, la connaissance des tissus normaux, sur le plan structural et ultra-structural, permet d'assurer le lien entre structure et fonction. Cela facilite l'approche des différentes pathologies à différents niveaux,

1 – LES TECHNIQUES D'ETUDE EN HISTOLOGIE.

Toute activité histologique a en commun l'action d'observer et d'interpréter ce qui est vu. Dans toute démarche d'ordre histologique, 4 étapes se succèdent : le choix du matériel à étudier, la technique permettant de visualiser les structures que l'on veut étudier, la production d'images de ces structures, par des moyens optiques et l'interprétation de ces images.

Le matériel est prélevé de différentes façons. Le matériel histologique peut être obtenu par biopsie (directe comme pour la peau, avec endoscopie pour les organes des appareils), par ponction à l'aiguille (pour la moelle osseuse). Le matériel histologique peut aussi provenir d'une pièce opératoire, d'une autopsie ou de la dissection d'organe en expérimentation animale.

Pour rendre visible ce que l'on veut observer, il est nécessaire de mettre en œuvre des techniques diverses (préparation des échantillons) que l'on applique au matériel. Pour l'observation en microscope photonique, les coupes examinées sont le fruit de procédures techniques qui requièrent plusieurs étapes successives : fixation, inclusion, coupe, coloration, montage.

La fixation a pour but de tuer les cellules, mais visent à préserver au maximum leurs caractéristiques morphologiques et biochimiques, de conserver les structures et de durcir les pièces. Elle doit se faire immédiatement après le prélèvement, par immersion du matériel dans un grand volume de liquide fixateur. Les liquides fixateurs les plus utilisés sont le formol ou le liquide de Bouin (mélange de formol et d'acide picrique). La durée de la fixation varie selon le volume des prélèvements (elle est de quelques heures pour un petit fragment biopsique à plusieurs semaines pour un de plus grandes pièces).

Les pièces vont subir par la suite une inclusion, cette dernière a pour but de permettre la réalisation de coupes fines et régulières. Le milieu d'inclusion le plus utilisé est la paraffine. Comme la paraffine est hydrophobe, le prélèvement doit d'abord subir une déshydratation (par immersion dans des bains d'alcool de degré croissant puis dans des bains de toluène) avant d'être coulé dans un moule contenant de la paraffine fondue par chauffage et devenue liquide, qui infiltre alors toute la pièce. Après refroidissement, on se trouve en présence d'un bloc de paraffine, dur, à l'intérieur duquel la pièce prélevée est incluse.

Chaque bloc de paraffine est ensuite coupé avec un microtome permettant de réaliser des tranches de section (coupes) de 2 à 5 μm d'épaisseur. Les coupes sont recueillies sur des lames de verre.

Des colorations sont ensuite réalisées sur lames. Elles accentuent les contrastes pour mieux reconnaître les différents éléments de la préparation. Comme les colorants sont en solution aqueuse, les coupes doivent d'abord subir

une réhydratation. Celle-ci est effectuée après déparaffinage des coupes (par la chaleur et des bains de toluène) en immergeant les lames dans des bains d'alcool de degré décroissant puis dans de l'eau distillée. Les colorations de routine utilisent un colorant (hématéine) ou deux colorants différents : l'Hématéine-Eosine (H.E.) associé l'hématéine qui colore les noyaux en violet et l'éosine les cytoplasmes en rose. Les colorations trichromiques usuelles sont l'Hématéine-Eosine-Safran (H.E.S.) par ajout de safran colorant en jaune les fibres de collagène, et le trichrome de Masson (TM) qui associe un colorant nucléaire (hématoxyline), un colorant cytoplasmique et un colorant bleu ou vert colorant les fibres de collagène. De nombreuses colorations spéciales (dites signalétiques) permettent de visualiser différentes structures ou composants des tissus (par exemple, les fibres de réticuline par des colorations argentiques ou les fibres élastiques par l'orcéine).

Après avoir subi une déshydratation (par bains d'alcool de degré croissant puis bains de toluène), les coupes colorées sont montées entre lame et lamelle avec une résine synthétique dont l'indice de réfraction est voisin de celui du verre. On dispose alors d'une « préparation microscopique » (simplement appelée « lame » dans le langage courant) prête à être observée au microscope photonique. Ce dernier utilise la lumière visible. Son pouvoir séparateur est de 0,2 µm. L'observation microscopique requiert une bonne connaissance de l'échelle des grandeurs : le diamètre d'un globule rouge (environ 7 µm) et l'épaisseur d'une membrane plasmique (environ 7 nm) sont des références courantes.

Au cours de l'observation microscopique il est intéressant de produire des images de la préparation devenue observable, afin de pouvoir la regarder. La production des images est liée à la mise en œuvre de moyens optiques qui augmentent le pouvoir séparateur de l'œil humain (0,2 mm environ) et permettent d'analyser des structures très petites.

Associée à l'observation au microscope, la photographie et la vidéo permettent de conserver les images. La vidéo permet actuellement d'exploiter au mieux l'information visuelle : l'image peut ainsi être observée, communiquée, mesurée, archivée, éditée. Les signaux, captés par un détecteur, peuvent être transmis à un système informatique pour être analysés, amplifiés et/ou numérisés. La numérisation des images permet leur stockage, leur archivage et leur transmission à distance par ordinateur.

De plus il ne suffit pas d'observer les images produites par les microscopes, encore faut-il les interpréter. L'interprétation donne une signification aux images observées, détecte la présence d'une structure, d'une molécule, d'une fonction chimique et permet de les localiser dans la cellule, le tissu, l'organe ou l'organisme. L'interprétation est basée sur des processus de reconnaissance de formes, de contrastes, de couleurs, souvent combinés de façon peu dissociable dans des processus de reconnaissance plus globale de « formules », de « patrons ». Parmi les difficultés d'interprétation, les plus

élémentaires tiennent aux incidences de coupe et aux artéfacts. En effet les images observées sont situées dans un plan ; elles font partie d'un monde imaginaire à deux dimensions, à partir duquel il faut restituer le monde réel à trois dimensions. Dans certains cas, on oriente le bloc par rapport au plan de coupe, mais le plus souvent les structures sont coupées selon une incidence due au hasard.

Il faut se méfier des artéfacts et images artificielles créées par la technique. Dans une préparation histologique de routine, il peut exister des artéfacts de prélèvement (pinces, ciseaux, coagulation, gelures), de fixation (dessèchement, retard de fixation, fixateur trop ou trop peu concentré), d'inclusion (vides artificiels dus à la rétraction des cellules ou des tissus), de coupe (stries de rasoir, coupes trop épaisses ou trop minces), de collage (décollements, plis et replis de la coupe), de montage (bulles d'air entre la lame et la lamelle), de coloration (empâtements, dépôts, taches de colorant).

Tous les tissus de l'organisme dérivent des trois feuillets embryonnaires primitifs (ectoblaste, endoblaste et mésoblaste). Par exemple l'ectoblaste fournit la peau, les téguments et le système nerveux, l'endoblaste fournit le tube digestif et l'appareil pulmonaire et le mésoblaste fournit les muscles, le squelette, une grande partie de l'appareil urogénital etc. L'évolution des feuillets embryonnaires ne correspond pas à une spécificité tissulaire, et le même type de tissu peut provenir de différents feuillets. Ainsi, les trois feuillets donnent naissance à du tissu épithélial. Le tissu nerveux provient de l'ectoblaste. Les tissus conjonctif et musculaire dérivent presque exclusivement du mésoblaste.

Il est classique de distinguer quatre grands groupes de tissus qui correspondent à quatre entités facilement identifiables, nécessaires mais suffisantes, pour constituer l'ensemble des êtres vivants ; les tissu épithéliaux (épithéliums de revêtement et épithéliums glandulaires), les tissus de soutien (tissus conjonctifs, tissus cartilagineux et tissus osseux), le sang, les tissus musculaires (tissus musculaires striés squelettiques, tissus musculaires striés myocardiques et tissus musculaires lisses) et le tissu nerveux.

Enfin rappelons que deux ou plusieurs tissus en s'associant, avec la participation d'un système vasculaire et nerveux, vont composer les organes.

Les tissus de l'organisme se présentent comme il suit :

Les tissus épithéliaux sont constitués de cellules. Tous les épithéliums sont séparés du tissu conjonctif, qu'ils recouvrent et protégent, par une lame basale. Ils sont avasculaires (les exceptions sont rarissimes). Le tissu épithélial se divise en deux groupes principaux :

Les épithéliums de revêtement qui forment un revêtement sur la totalité des surfaces internes et externes de l'organisme. On peut citer certaines variétés d'épithéliums de revêtement tels que les endothéliums, l'épithélium intestinal et l'épiderme.

Les épithéliums glandulaires qui sont constitués par des cellules spécialisées dans la secrétions de produits. Ces derniers peuvent être élaborés

par des glandes exocrines qui sont toujours en relation avec la surface de l'organisme ou la lumière d'un organe creux par l'intermédiaire d'un canal excréteur. On peut citer certaines variétés de glandes exocrines telles que la glande de Brunner du duodénum, la glande sébacée de la peau et le pancréas exocrine. Les secrétions hormonales peuvent être élaborées par des glandes endocrines qui les déversent directement dans le sang ou la lymphe. Les hormones régulent spécifiquement le fonctionnement des cellules d'organes. C'est le cas du pancréas endocrine, des corticosurrénales, et de la thyroïde.

Le tissu conjonctif réunit une très large variété cellulaire et fibrillaire à côté d'une substance fondamentale de consistance semi solide. Les échanges métaboliques entre les cellules conjonctives et les capillaires sanguins se font grâce au liquide interstitiel dont une grande partie trouve son origine dans le sang. Les variétés de tissus conjonctifs peuvent être le tissu conjonctif adipeux de l'hypoderme, le tissu conjonctif élastique de la trachée et le tissu conjonctif muqueux du cordon ombilical.

Le tissu cartilagineux est constitué de cellules, de fibres et d'une substance fondamentale de consistance solide et élastique. Il assure un rôle de soutien. On peut citer le cartilage hyalin qui est le modèle, des pièces osseuses, chez l'embryon et le fœtus.

Le tissu osseux est constitué de cellules, de fibres et de substance fondamentale de consistance solide et rigide. Il forme le squelette et soutient les organes. Parmi les variétés de tissus osseux on peut citer le tissu osseux périostique, le tissu osseux haversien aréolaire et le tissu osseux haversien compact.

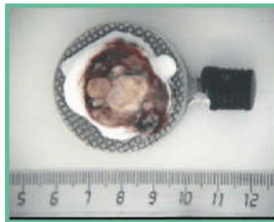
Le sang est un tissu constitué d'une solution aqueuse ; le plasma dans lequel baignent des globules et des plaquettes sanguines. Il constitue le milieu intérieur. Le sang assure la nutrition des cellules (plasma), le transport des gaz (globules rouges ou hématies), la défense de l'organisme (globules blancs ou leucocytes) et la coagulation des lésions (plaquettes sanguines).

Les tissus musculaires sont composés de cellules appelées fibres musculaires. Selon leur aspect on distingue trois variétés de tissus musculaires ; le tissu musculaire strié squelettique, le tissu musculaire strié myocardique et le tissu musculaire lisse.

Dans le tissu musculaire strié squelettique les contractions sont volontaires, dans le tissu musculaire strié myocardique et lisse, elles sont involontaires.

Le tissu nerveux s'organise en un véritable réseau de communication spécialisé dans la perception et le transport de l'influx nerveux. Il constitue le système nerveux. Il regroupe en même temps que des cellules spécifiques appelées, neurones, des cellules névrogliques assurant les rôles de protection, de soutien et de nutrition.

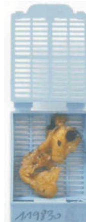
		Epithéliums		tissus de soutien	tissus musculaire	tissu nerveux
		de revêtement	glandulaires			
Ectoblaste	Epiblaste	Epiderme	Glandes sudoripares, sébacées et mammaires		Certains muscles lisses et cellules myoépithéliales	Placodes et certains neurones du SNP
	Neurectoblaste		Médullosurrénales		Certains muscles lisses	Tout le SN sauf les placodes
Mésoblaste		Epithéliums de revêtement de l'appareil urogénital, endothéliums et mésothéliums	Corticosurrénales	Fibroblastes, ostéocytes, chondrocytes, adipocytes et populations cellulaires libres	Muscle strié squelettique, muscle strié myocardique et muscle lisses	
Endoblaste		Epithéliums de revêtement de l'appareil digestif et respiratoire	Glandes digestives, foie, pancréas, glandes trachéobronchiques et cellules neuroendocrines			



Pièce prélevée.



Fixation.



Pièce



Inclusion



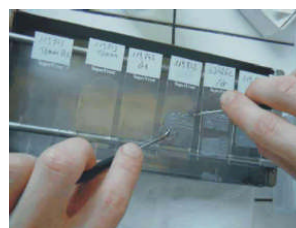
Bloc.



Microtome.



Coupe



Étalement



Séchage



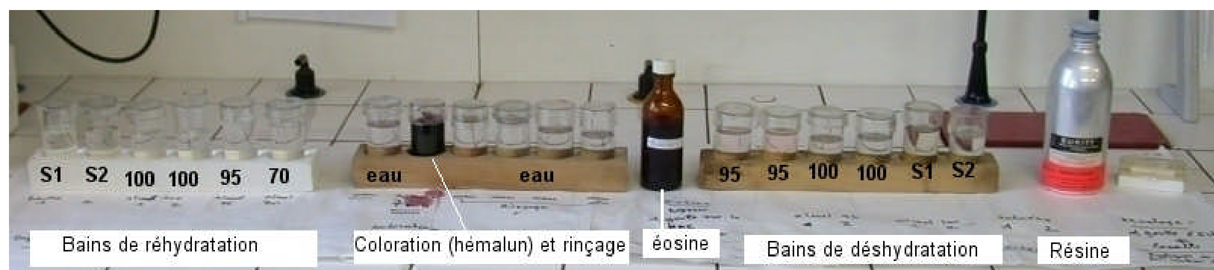
Lames colorées



Montage avec une résine



Tubes de Borel.



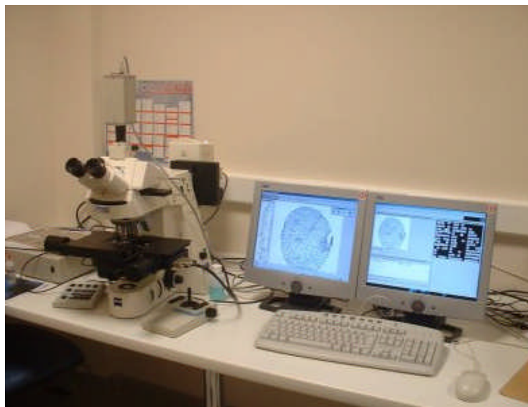
Bains, colorants et résine de montage.



Automate de deshydratation type caroussel



Unité de coloration



Microscope photonique



Observation